DOI: 10.22092/spj.2023.362895.1315

"مجله نهال و بذر"
جلد ۳۸، شماره ۴، سال ۱۴۰۱

مقاله پژوهشی

اثر محلول‌پاشی ملاتونین بر برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی پایه نارنج در شرایط تنش شوری

Effect of Foliar Application of Melatonin on Some Morphological and Physiological Traits of Sour Orange Rootstock in Salinity Stress Conditions

ایمن علی خدادادی[۱]، جواد عرفانی مقدم[۲*]، فردین قنبری[۳]، و مهدی حدادی‌نژاد[۴]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد،گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.
۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.
۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.
۴- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۹

چکیده

علی خدادادی، ا.، عرفانی مقدم، ج.، قنبری، ف. و حدادی‌نژاد، م. ۱۴۰۱. اثر محلول‌پاشی ملاتونین بر برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی پایه نارنج در شرایط تنش شوری. **مجله نهال و بذر ۳۸:** ۴۵۲-۴۳۳

شوری خاک یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که باعث کاهش رشد و عملکرد محصولات می‌شود و طیف گسترده‌ای از واکنش ها و علائم فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان ایجاد می‌کند. در این پژوهش، اثر محلول‌پاشی با ملاتونین (صفر و ۲۰۰ میکرومولار) در شرایط شوری (۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بر روی پایه نارنج مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکرار در سال ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. نتایج نشان داد بیشتر صفات رشدی، مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی تحت تأثیر شوری و محلول‌پاشی ملاتونین قرار گرفتند. برهمکنش شوری × محلول‌پاشی ملاتونین بر طول و عرض برگ، تعداد شاخه نورسته، طول شاخه‌نورسته، طول ریشه، درصد رطوبت و درصد ماده خشک برگ، نشت‌یونی، هدایت روزنه‌ای، میزان تعرق، میزان آسیمیلاسیون، کمبود فشار بخار و عملکرد کوانتومی فتوسنتز معنی‌دار بود. محلول‌پاشی ملاتونین باعث افزایش درصد رطوبت برگ، تعداد شاخه نورسته، میزان آسمیلاسیون، هدایت روزنه‌ای و عملکرد کوانتومی فتوسنتز شد، در حالیکه میزان نشت یونی برگ کاهش یافت. بیشترین عملکرد کوانتومی فتوسنتز مربوط به تیمار شوری صفر و ملاتونین ۲۰۰ میکرومولار بود، با این حال بیشتر شاخص‌های فیزیولوژیکی با کاربرد ملاتونین در شرایط شوری بهبود یافتند. کاربرد ملاتونین در سطوح مختلف شوری سبب افزایش معنی‌دار طول و عرض برگ شاخه نورسته در مقایسه با شاهد شد. نتایج کلی نشان داد که محلول‌پاشی ملاتونین اثر شوری بر بیشتر شاخص‌های رشدی را کاهش داد و می تواند به عنوان راهکاری مؤثر برای کاهش خسارت ناشی از تنش شوری آب و خاک در پایه نارنج مد نظر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: نارنج، نشت‌یونی، هدایت روزنه‌ای، میزان تعرق، فتوسنتز.

* نگارنده مسئول:J.erfani@ilam.ac.ir تلفن: ۰۸۴۳۲۲۲۷۰۱۵

مقدمه

در طبیعت گیاهان در معرض تنش‌های زنده و غیر زنده مختلفی قرار دارند که بر مورفولوژی، فیزیولوژی و رشد و نمو آنها تأثیر می‌گذارند. تنش‌های محیطی هر ساله باعث کاهش قابل توجهی در عملکرد بسیاری از محصولات کشاورزی می‌شوند که این کاهش در برخی گیاهان به ۷۰ درصد می‌رسد (Boyer, 1982). در میان تنش‌های محیطی، شوری بیشترین اثر منفی را بر رشد و باروری گیاهان دارد (Raveh and Levy, 2005).

شوری از سه طریق تنش اسمزی، وجود یون‌های سمی و عدم تعادل تغذیه‌ای بر واکنش‌های فیزیولوژیکی گیاه تأثیر منفی می‌گذارد. نمک‌های موجود در محلول غذایی یک اثر اسمزی دارند و از طریق فرآیندهای فیزیکی باعث جذب آب از خاک شده و در دسترس بودن آب آزاد را کاهش می‌دهد. این وضعیت مشابه تنش خشکی است که پتانسیل آب گیاه را کاهش می‌دهد (Syvertsen and Garcia-Sanchez, 2014). بنابراین در نتیجه تنش شوری رشد و عملکرد گیاه کاهش می‌یابد (Moustafa-Farag *et al*., 2020).

مرکبات به عنوان گیاهان حساس به شوری طبقه‌بندی می‌شوند، زیرا سطح شوری نسبتاً کم منجر به ایجاد اختلالات فیزیولوژیکی و کاهش رشد و عملکرد میوه در آن‌ها می‌شود (Alam *et al*., 2020). تحمل نمک در مرکبات به توانایی پایه‌های آن‌ها در محدود کردن جذب و انتقال یون‌های سدیم و کلر از ریشه به شاخساره‌ها مرتبط است (Navarro *et al*., 2014). در سال‌های اخیر، راهبردهای مختلفی برای افزایش تحمل تنش‌های محیطی در گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است. یکی از این راه‌کارها استفاده از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی است. ملاتونین یک ایندولامین است که عملکردهای مختلف آن در انسان و حیوان شناخته شده است و در سال ۱۹۹۵ در گیاهان نیز کشف شد (Dubbels *et al*., 1995).

در گیاهان ملاتونین به عنوان یک تقویت‌کننده تحمل در برابر شرایط تنش محیطی مانند خشکی، سرما، گرما، شوری و آلاینده‌های شیمیایی عمل می‌کند. در این شرایط، ملاتونین دارای اثر تقویتی روی گیاهان است و باعث ایجاد تغییرات زیادی در فرآیندهای بیوشیمیایی و بیان ژن مربوط به واکنش به تنش می‌شود (Moustafa-Farag *et al*., 2020). ملاتونین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان نقش حیاتی دارد و می‌تواند به عنوان پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد برای محافظت از گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو با تثبیت وضعیت اکسیداسیون و احیاء سلول عمل کند. به علاوه ملاتونین تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را تحریک می‌کند و بیوسنتز آنتی‌اکسیدان‌ها را تقویت می‌کند و همچنین چرخه آسکوربات – گلوتاتیون (AsA - GSH) را فعال کرده تا گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species = ROS) را از بین

ببرد (Zhang *et al*., 2015).

با توجه به نتایج مثبت کاربرد خارجی ملاتونین درگیاهان ، در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی برای بررسی نقش آن در گیاهان انجام شده است (Liu *et al*., 2018; Ali *et al*., 2020). بسیاری از نتایج نشان داده است که گیاهان تحت تیمار با ملاتونین تحمل بیشتری نسبت به نمک دارند. نتایج آزمایشان بیشتر نشان داده است که گیاهان تحت تیمار با ملاتونین دارای ROS کمتر، نشت الکترولیت و آسیب سلولی کمتری بودند، در حالی که ارتفاع بلندتر، زیست توده و مواد آلی بیشتری نسبت به گیاهان بدون تیمار داشتند (Shi *et al*., 2015). ملاتونین در گیاهان به عنوان یک آنتی‌اکسیدان منحصر به فرد عمل می‌کند و می‌تواند با ROS تعامل داشته باشد و سطح آن‌ها را تحت شرایط تنش کاهش دهد (Arnao and Hernández-Ruiz, 2013). بنابراین، در شرایط تنش، افزایش میزان ملاتونین با افزایش سطح ROS مرتبط است.

محققان گزارش کرده اند که ملاتونین برون‌زا باعث ایجاد ریشه‌های جانبی خیار (*Cucumis sativus*) شد (Zhang *et al*., 2014). در آزمایشی بر روی گیاهچه‌های *Arabidopsis*، غلظت متوسط ملاتونین (۴۰ میکرومولار) باعث رشد و نمو گیاه شد، غلظت کم (۱۰-۲۰ میکرومولار) هیچ تأثیر مشخصی نداشت و غلظت زیاد (۲۰۰ تا ۴۰۰ میکرومولار) مانع از رشد گیاه شد (Bajwa *et al*., 2014). نظر کلی بر این است که ملاتونین می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد. علاوه بر این، ملاتونین می‌تواند کارایی زنجیره انتقال الکترون میتوکندری را افزایش داده و در نتیجه نشت الکترون و تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد، که این به نوبه خود از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند (Parida and Das, 2005).

ملاتونین اثر مهمی بر فرایند فتوسنتز و حفاظت نوری دارد (Wang *et al*., 2012). ملاتونین دارای اثر محافظتی بر کلروفیل است که در ماکروجلبک *Ulva* spp. کشف شده است (Tal *et al*., 2011). همچنین نشان داده شده است که درگیاه *Chara australis*، ملاتونین از کلروفیل محافظت می‌کند و کارایی مراکز واکنش سامانه نوری II را افزایش می‌دهد (Takahashi and Murata, 2008). اخیرا، داده‌های مشابهی در مورد اثر آن بر علف برموداگراس، مرکبات و آفتابگردان در شرایط تنش شوری بدست آمده است که نقش محافظتی ملاتونین بر روی رنگدانه‌های فتوسنتزی را تأیید می‌کند (Shi *et al*., 2015).

تحمل به نمک در پایه سیب M26 توسط ملاتونین از طریق تنظیم مجدد MdNHX1 بهبود یافت (Li *et al*., 2010). ملاتونین با حفظ هموستاز یون از طریق تعدیل بیان MdNHX1 و MdAKT1 در سیب،

آسیب ناشی از شرایط تنش نمک بالا را کاهش داد. گزارش شده است، تنش شوری باعث تولید اسید آبسزیک در بافت گیاهی و تنظیم سطح بیان ژن AtNHX1 می‌شود (Shi *et al*., 2002).

پژوهش ها نشان داده است که تیمار با کلرید سدیم یا اسید آبسزیک می‌تواند سطوح پیوسته رونویسی AtNHX1 را تنظیم کند. علاوه بر این، تنظیم مجدد بیان AtNHX1 تحت تنش شوری تا حدی به بیوسنتز اسید آبسزیک و سیگنال دهی آن از طریق ABI1 (مسیر حساس به اسید آبسزیک) وابسته است (Shi *et al*., 2002). با این حال، استفاده از ملاتونین در شرایط تنش شوری می‌تواند تجزیه و سنتز ABA را تحت تأثیر قرار دهد، و ممکن است که ملاتونین بر تنظیم و تقسیم یون از طریق بیوسنتز و مسیر علامت دهی اسید آبسزیک تأثیر بگذارد. عملکرد دقیق ملاتونین در شرایط تنش شوری این است که ملاتونین با تنظیم ژن‌های ناقل NHX1 و AKT1 هموستاز یون را حفظ می‌کند (Li *et al*., 2012). با این حال، روشن شدن سازکار تحمل به نمک ناشی از اثر ملاتونین نیاز به پژوهش‌های بیشتری دارد.

با توجه به اهمیت نارنج به عنوان پایه برای انواع ارقام تجاری مرکبات در ایران و سایر کشورها، پژوهش‌های جامعی برای بررسی آثار شوری بر این پایه وگیاهان مشابه مورد نیاز است تا بتوان سازکارهای تحمل به تنش شوری در آنها را بهتر شناخت. از طرف دیگر پژوهش های اخیر نشان داده است که استفاده از شبه‌هورمون‌های گیاهی مانند ملاتونین می‌تواند راهکار مؤثری برای کاهش آثار تنش محیطی بر گیاهان باشد.

بنابراین در پژوهش حاضر اثر کاربرد خارجی (محلول پاشی) ملاتونین بر بهبود تحمل به تنش شوری و برخی سازکارهای دخیل در آن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به صورت گلدانی در هوای آزاد انجام شد. در این پژوهش، اثر محلول‌پاشی ملاتونین بر برخی از خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی پایه نارنج (*Citrus aurantium*) تحت شرایط تنش شوری بررسی شد. این پژوهش بر روی نهال های یک ساله نارنج که در گلدان کشت شده بودند به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام شد.

تیمارهای آزمایش شامل پنج سطح تنش شوری (۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار، معادل ۰، ۱/۷۵، ۳/۵، ۵/۲۵ و ۷ گرم در لیتر نمک کلرید سدیم) و دو سطح ملاتونین (صفر و ۲۰۰ میکرومولار) بود. هدایت الکتریکی تیمارهای شوری برای سطوح مختلف به ترتیب ۲/۷۳، ۵/۴۶، ۸/۲۰ و ۱۰/۹۳ دسی‌زیمنس بر متر

بود. غلظت ۲۰۰ میکرومولار ملاتونین بر اساس پژوهش انجام شده توسط زاهدی و همکاران (Zahedi *et al.*, 2020) انتخاب شد. برای اعمال تیمارهای شاهد از آب مقطر استفاده شد. تعداد ۱۲۰ نهال یکساله نسبتا یکنواخت نارنج در گلدان پلاستیکی ده کیلویی شامل مخلوطی از خاک مزرعه و ماسه شسته شده به نسبت مساوی در اسفند ۱۳۹۹ کشت شدند و به شکل تصادفی در گروه تیماری چیده شدند (هر واحد آزمایشی شامل سه نهال).

قبل از اعمال سطوح تیمار شوری و ملاتونین، تغذیه همه نهال‌ها دو مرتبه، با کود کامل محلول، به شکل محلول‌پاشی انجام شد. تیمارهای تنش شوری در غلظت‌های ذکر شده از اول اردیبهشت سال ۱۴۰۰ شروع شد و به صورت آبیاری (هفته‌ای دو بار) و تا سه ماه ادامه یافت. تیمار ملاتونین نیز در ابتدای هر ماه در غلظت‌های ذکر شده به صورت محلول‌پاشی برگی (سه مرتبه) اعمال شد. در پایان آزمایش نمونه‌های لازم برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی تهیه شد و همچنین نمونه کافی از برگ برای اندازه‌گیری برخی صفات بیوشیمیایی تهیه و بلافاصله در فریزر ۸۰- ذخیره شد.

شاخص‌های رشدی (تعداد شاخه نورسته، طول شاخه نورسته، طول ریشه، طول و عرض برگ)، صفات فیزیولوژیکی (نشت یونی برگ، درصد رطوبت و ماده خشک برگ، شاخص‌های فتوسنتزی و شدت تعرق برگ) با استفاده از دستورالعمل های مرسوم بر روی شاخ و برگ‌های شاخه نورسته ارزیابی شدند. تعداد شاخه نورسته در پایان دوره آزمایش و طول شاخه نورسته برای هر گروه تیماری ثبت شد.

برای هر نهال ۲۰ برگ به شکل تصادفی انتخاب و طول و عرض برگ (ماکزیمم عرض برگ) با استفاده از کولیس با دقت یک‌صدم میلی‌متر اندازه‌گیری شد. میانگین اعداد حاصل به عنوان طول و عرض برگ در نظر گرفته شد. برای تعیین درصد رطوبت و ماده خشک برگ، وزن تر و خشک چند برگ سال جاری انتخاب و با ترازوی دیجیتال توزین شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها در پاکت مخصوص قرار گرفته و به مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شده و مجدداً توزین شدند و براساس روابط موجود درصد رطوبت و ماده خشک برگ به‌دست آمد. پس از خارج کردن نهال از گلدان و شستشوی کامل ریشه، طول آن با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری نشت‌یونی، دیسک‌های یک سانتی‌متری از برگ نمونه‌ها تهیه شد. نمونه‌ها ابتدا به وسیله آب مقطر شستشو داده شد و سپس به آن‌ها ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. پس از این مرحله با استفاده از دستگاه EC متر هدایت الکتریکی نمونه‌ها قرائت شد (Ci). نمونه‌ها به

مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از سرد شدن مجدداً هدایت الکتریکی(Cm) آنها بوسیله دستگاه EC متر قرائت شد. در نهایت درصد نشت یونی (Ion Leakage = IL) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Lutts *et al.*, 1996).

$$IL (\%) = (Ci/Cm) \times 100$$

در این رابطه Ci هدایت الکتریکی اندازه گیری شده پس از شستشوی برگها، و Cm هدایت الکتریکی شده پس از سرد شدن نمونه ها است.

برای اندازه‌گیری شاخص‌های فتوسنتزی شامل شدت تعرق، نرخ آسیمیلاسیون، کسر فشار بخار، هدایت روزنه‌ای و کارآیی کوآنتومی فتوسنتز از دستگاه پرومتر (WALZ مدل GFS-3000) استفاده شد. برای این کار، کلاهک دستگاه روی قسمتی از برگ قرار داده شد و سرعت خروج بخار آب از برگ از طریق روزنه‌های هوایی اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل از انتهایی‌ترین برگ کاملاً توسعه‌یافته استفاده شد. این کار با استفاده از Chlorophyll Fluorometer اندازه‌گیری شد. در شرایط گلخانه‌ای با استفاده از گیرهای مخصوص برگ نهال نارنج به مدت ۲۰ دقیقه با تاریکی سازگار شد و سپس میزان فلورسانس کلروفیل تیمارها در شدت نور ۱۰۰۰ میکرومول (فوتون) بر مترمربع در ثانیه مورد سنجش قرار گرفت (Arnon, 1949).

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری SAS (نسخه 9.1.3) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی شوری و ملاتونین و همچنین اثر متقابل آنها بر خصوصیات رشدی پایه نارنج شامل تعداد شاخه نورسته، طول و عرض برگ، طول شاخه نورسته، طول ریشه، درصد رطوبت و ماده خشک برگ و همچنین نشت یونی برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

بیشترین تعداد شاخه نورسته مربوط تیمار ملاتونین ۲۰۰ میکرومولار و شوری ۶۰ میلی‌مولار با تعداد هفت شاخه و کمترین تعداد شاخه نورسته در تیمار بدون ملاتونین و شوری ۱۲۰ با تعداد ۰/۵ شاخه بود (جدول ۲). تیمار ملاتونین ۲۰۰ میکرومولار به خصوص در سطوح بالای شوری تعداد شاخه نورسته را نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش داد (جدول ۲). نتایج این پژوهش نشان داد تعداد شاخه نورسته در مقادیر بالای شوری به شدت کاهش می‌یابد و بنابراین محلول‌پاشی با ملاتونین می‌تواند یکی از راه‌حل‌های مؤثر برای افزایش تعداد شاخه نورسته باشد.

با افزایش سطح شوری طول و عرض برگ روند کاهشی نشان داد به طوری که کمترین

جدول ۱- تجزیه واریانس برای برخی صفات رشدی پایه نارنج تحت تأثیر تنش شوری و محلول‌پاشی ملاتونین

Table 1. Analysis of variance for some growth traits of sour orange rootstock as affected by salinity stress and foliar application of melatonin

S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی d.f.	تعداد شاخه نورسته Flush number	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width	طول شاخه نورسته Flush length	طول ریشه Root length	رطوبت برگ Leaf moisture	ماده خشک برگ Leaf dry matter	نشت یونی Ion leakage
Salinity (S)	شوری	4	23.78**	204.29**	44.53**	77.64**	144.85**	582.84**	582.84**	181.40**
Melatonin (M)	ملاتونین	1	16.90**	529.98**	66.04**	1.52	80.08**	2724.11**	2724.11**	35.41**
S × M	شوری × ملاتونین	4	9.46**	165.60**	20.93**	15.15**	32.06*	84.88**	84.88**	21.67**
Error	خطای آزمایشی	30	0.68	4.09	0.54	5.64	8.97	11.83	11.83	0.23
C.V. (%)	ضریب تغییرات (٪)	-	19.68	5.66	5.64	6.21	8.29	5.2	10.12	2.26

* and **: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

* و ** : به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

جدول ۲- مقایسه میانگین برخی صفات رشدی پایه نارنج تحت تاثیرتنش شوری و محلول‌پاشی ملاتونین

Table 2. Mean comparison of some growth traits of sour orange rootstock as affected by salinity stress and foliar application of melatonin

ملاتونین (میکرو مولار) Melatonin (μM)	شوری (میلی مولار) Salinity (mM)	تعداد شاخه نورسته Flush number	طول برگ (میلی متر) Leaf length (mm)	عرض برگ (میلی متر) Leaf width (mm)	طول شاخه نورسته (سانتی متر) Flush length (cm)	طول ریشه (سانتی متر) Root length (cm)	رطوبت برگ (٪) Leaf moisture (%)	ماده خشک برگ (٪) Leaf dry matter (%)	نشت یونی (٪) Ion leakage (%)
0	0	4.75bc	45.10a	17.70a	44.75a	33.80cd	75.77b	24.22d	13.11f
	30	6.75a	35.21c	13.62d	37.22b	43.20a	60.70c	39.29c	22.79bc
	60	3.25d	29.14d	10.87e	37.37b	42.15a	54.85d	45.14b	21.55cd
	90	2.50d	25.08e	9.12f	36.22bc	39.22ab	52.09d	47.91b	23.03bc
	120	0.50e	23.10e	7.82g	36.52bc	29.27d	45.45e	54.54a	30.16a
200	0	3.75cd	37.04c	15.02bc	36.80bc	32.22cd	84.64a	15.35e	14.23f
	30	5.75ab	42.10b	15.70b	47.10a	39.80ab	73.97b	26.02d	19.78e
	60	7.00a	42.20b	14.12cd	36.10bc	35.40bc	70.28b	29.71d	20.53de
	90	5.00bc	38.07c	13.57d	33.17c	33.45cd	70.80b	29.20d	23.56b
	120	2.75d	35.16c	13.57d	36.97bc	32.62cd	71.70b	28.32d	23.13bc

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at the 5% probability level-using Dancan’s Multiple Range Test.

طـول و عـرض بـرگ مربـوط بـه تیمـار بـدون ملاتونین و شوری ۱۲۰ میلی‌مولار بـود. کـاربرد ملاتونین در شرایط بدون شوری (شاهد) طول و عرض برگ را نسبت به شاهد کـاهش داد ولـی در سـطوح مختلـف شـوری، ملاتـونین سـبب افزایش معنی‌دار طول و عرض بـرگ نسـبت بـه شـاهد شـد. بیشـترین طـول بـرگ بـا مقـدار ۴۵ میلی‌متر در تیمار شاهد مشـاهده شـد و کمتـرین مقـــدار آن (۲۳ میلـــی‌متـــر) در شـــوری ۱۲۰ میلـی‌مـولار و بـدون ملاتـونین مشـاهده شـد. بیشترین عرض برگ با مقدار ۱۷/۷ میلـی‌متـر در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن (۷/۸۲ میلی‌متر) در شـوری ۱۲۰ میلـی‌مـولار و بـدون ملاتـونین مشاهده شد (جدول ۲).

مقایسه میانگین اثر متقابل ملاتونین × شـوری نشان داد که در شرایط بدون کـاربرد ملاتـونین، سطوح مختلف شـوری سـبب کـاهش معنـی‌دار طول شـاخه نورسـته نسـبت بـه شـاهد شـدند. در شرایط بدون شـوری (شـاهد) کـاربرد ملاتـونین سبب کاهش طول شـاخه نورسـته شـد ولـی در تیمار شوری ۳۰ میلـی‌مـولار، کـاربرد ملاتـونین طول شاخه نورسته را نسبت به شاهد افزایش داد. بیشـترین طـول شـاخه نورسـته بـا مقـدار ۴۷/۱ سانتی‌متر در تیمار ملاتـونین ۲۰۰ میکرومـولار و شوری ۳۰ میلـی‌مـولار مشـاهده شـد و کمتـرین مقـــدار آن (۳۳/۱۷ ســـانتی‌متـــر) در شـــوری ۹۰ میلی‌مولار و ملاتونین ۲۰۰ میکرومولار ثبت شد (جدول ۲).

نتایج نشـان داد بـا افـزایش غلظـت نمـک تـا سطح ۶۰ میلی‌مولار، طول ریشـه رونـد افزایشـی داشــت و پــس از آن کــاهش یافــت. کــاربرد ملاتونین در سطوح شوری ۶۰ و ۹۰ میلی‌مـولار، طـول ریشــه را نسـبت بــه شـاهد کـاهش داد. بیشترین طول ریشه با مقدار ۴۳/۲ سـانتی‌متـر در تیمار بـدون ملاتـونین و شـوری۳۰ میلـی‌مـولار مشــاهده شــد و کمتــرین مقــدار آن (۲۹/۲۷ سانتی‌متـر) در شـوری ۱۲۰ میلـی‌مـولار و بـدون ملاتونین بود (جدول ۲).

با افزایش سطح شوری، درصد رطوبت برگ به طور معنی‌داری کاهش یافـت بـه طـوری کـه کمتـرین میـانگین ایـن صـفت در تیمـار ۱۲۰ میلی‌مولار نمـک و بـدون کـاربرد ملاتـونین بـه دست آمـد. از طـرف دیگـر، کـاربرد ملاتـونین نسبت به عدم کاربرد آن سبب افزایش معنـی‌دار درصد رطوبت برگ شد. بیشترین تأثیر ملاتونین بر رطوبت برگ در تیمار شوری ۱۲۰ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۲).

در شرایط عدم کاربرد ملاتونین، بـا افـزایش سطح شوری درصد ماده خشک برگ نیز به‌طور معنــــی‌داری افــــزایش یافــــت. در شــــرایط کاربرد ملاتونین، غلظت‌های مختلف شـوری بـه طـور یکسـان درصـد مـاده خشـک را نسـبت بــه شــاهد افــزایش دادنــد. همچنــین کــاربرد ملاتونین در تمام سـطوح شـوری سـبب کـاهش معنی‌دار درصد ماده خشک نسبت به شاهد شـد (جدول ۲).

نشت یـونی بـرگ تحـت تـاثیر شـوری قـرار گرفـت بـه‌طوریکـه در شـرایط کـاربرد و عـدم

کاربرد ملاتونین، با افزایش سطح شوری میزان نشت‌یونی روند افزایشی نشان داد. کاربرد ملاتونین در سطوح ۳۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار شوری، سبب کاهش معنی‌دار نشت‌یونی نسبت به شاهد شد و در سطوح دیگر شوری تأثیر معنی‌داری نداشت. نتایج پژوهش نشان داد بیشترین میزان نشت‌یونی با مقدار ۳۰/۱۶ درصد در تیمار بدون ملاتونین و شوری ۱۲۰ میلی‌مولار مشاهده شد و کمترین مقدار آن ۱۳/۱۱ درصد در شوری صفر و بدون ملاتونین بود (جدول ۲).

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر متقابل شوری × ملاتونین بر شاخص‌های فیزیولوژیکی شامل میزان تعرق برگ، نرخ آسیمیلاسیون فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، کسر فشار بخار آب و کارایی کوآنتومی فتوسنتز برگ معنی‌دار شد (جدول ۳). کاربرد ملاتونین تأثیر متفاوتی بر میزان تعرق برگ نارنج در سطوح مختلف شوری داشت. در تیمار شاهد و سطوح شوری ۳۰ و ۹۰ میلی‌مولار کاربرد ملاتونین اثر معنی‌داری بر میزان تعرق برگ در مقایسه با عدم کاربرد آن نداشت. در شوری ۶۰ میلی‌مولار کاربرد ملاتونین سبب کاهش و در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار کاربرد ملاتونین سبب افزایش میزان تعرق نسبت به شاهد شد (جدول ۴).

مقایسه میانگین ها نشان داد که میزان آسیمیلاسیون به طور متفاوتی تحت تأثیر شوری و ملاتونین قرار گرفت. در تیمارهای شاهد شوری و ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ملاتونین اثر معنی‌داری بر نرخ آسیمیلاسیون نداشت ولی در سایر سطوح شوری کاربرد ملاتونین در مقایسه با عدم کاربرد آن نرخ آسیمیلاسیون را افزایش داد. بیشترین نرخ آسیمیلاسیون با مقدار ۴/۹۹ میکرومول در مترمربع در ثانیه در تیمار ملاتونین ۲۰۰ میکرومولار و شوری ۱۲۰ میلی‌مولار مشاهده شد و کمترین مقدار آن ۲/۰۲ میکرومول بر متر مربع در ثانیه در شوری ۹۰ میلی‌مولار و ملاتونین ۲۰۰ میکرومولار بود (جدول ۴).

اثر شوری بر هدایت روزنه‌ای معنی‌دار بود، اما اثر ملاتونین بر آن معنی‌دار نبود در حالیکه اثر متقابل شوری × ملاتونین بر هدایت روزنه‌ای معنی‌دار بود (جدول ۳). در شرایط عدم کاربرد ملاتونین، هدایت روزنه‌ای تا شوری ۶۰ میلی مولار افزایش و سپس با افزایش شوری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. کاربرد ملاتونین در شرایط شوری شدید (۱۲۰ میلی‌مولار) سبب افزایش معنی‌دار هدایت روزنه‌ای در مقایسه با شاهد شد. بیشترین هدایت روزنه‌ای با مقدار ۳۲ میلی مول بر متر مربع در ثانیه در تیمار ملاتونین ۲۰۰ و شوری ۱۲۰ مشاهده شد و کمترین مقدار آن ۲۴ میلی مول بر متر مربع در ثانیه در تیمار بدون ملاتونین و شوری ۱۲۰ ثبت شد (جدول ۴).

تنش شوری اثر معنی‌داری بر کمبود فشار بخار نداشت ولی در شرایط کاربرد ملاتونین، غلظت‌های بالای شوری (۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار)

جدول ۳- تجزیه واریانس برای برخی صفات فیزیولوژیکی برگ نارنج تحت تأثیر تنش شوری و محلول‌پاشی ملاتونین

Table 3. Analysis of variance for some physiological traits of leaf of sour orange as affected by salinity stress and foliar application of melatonin

S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی d.f.	میزان تعرق Transpiration rate	میزان آسیمیلاسیون Assimilation rate	هدایت روزنه ای Stomatal conductance	کمبود فشار بخار Vapor pressure deficit	عملکرد کوانتومی فتوسنتز Photosynthetic quantum yield
Salinity (S)	شوری	4	0.32**	3.88**	16.32**	366.28**	0.020**
Melatonin (M)	ملاتونین	1	0.31**	8.10**	5.55	1166.95**	0.024**
S × M	ملاتونین × شوری	4	0.70**	1.70*	30.89**	651.45**	0.011*
Error	خطای آزمایشی	30	0.04	0.57	3.51	39.33	0.005
C.V. (%)	ضریب تغییرات (٪)	-	23.99	23.49	6.67	6.07	10.94

* and **: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively

* و **: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

جدول ۴- مقایسه میانگین برخی صفات فیزیولوژیکی برگ نارنج تحت تأثیر تنش شوری و محلول‌پاشی ملاتونین

Table 4. Mean comparison of some physiological traits of leaf of source orange as affected by salinity stress and foliar application of melatonin

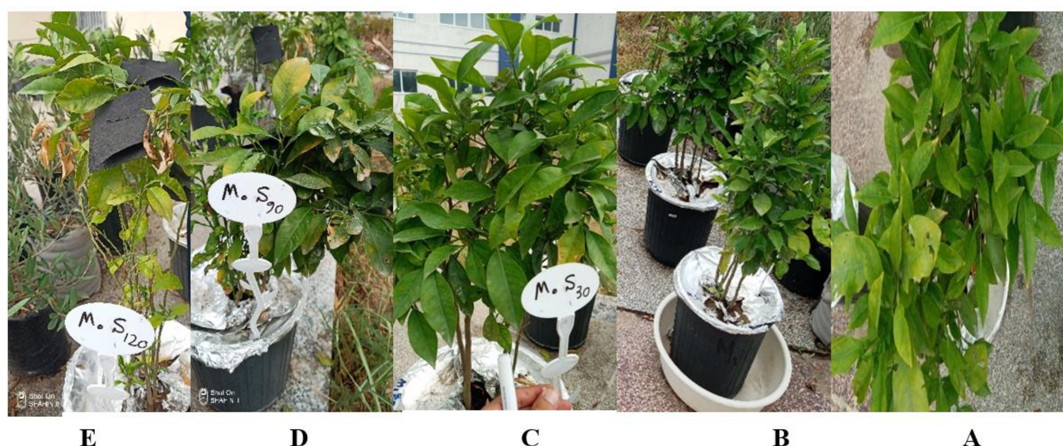
ملاتونین (میکرو مولار) Melatonin (µM)	شوری (میلی مولار) Salinity (mM)	میزان تعرق (میلی متر آب بر متر مربع در ثانیه) Transpiration rate (mm H_2O m^{-2} s^{-1})	میزان آسیمیلاسیون (میکرو مول بر متر مربع در ثانیه) Assimilation rate (µmol m^{-2} s^{-1})	هدایت روزنه ای (میلی مول بر متر مربع در ثانیه) Stomatal conductance (mmol m^{-2} s^{-1})	کسر فشار بخار (کیلو پاسکال) Vapor pressure deficit (kPa)	عملکرد کوانتومی فتوسنتز (میکرو مول گازکربنیک بر میکرو مول فوتون) Photosynthetic quantum yield (µm CO_2 µm $photon^{-1}$)
	0	0.75cde	3.20bcd	27.96b	94d	0.72ab
	30	0.82cd	3.00cd	28.00b	101bcd	0.55d
0	60	1.23b	2.20d	31.00a	105bc	0.61bcd
	90	0.54de	2.41cd	25.00bc	93d	0.67abc
	120	0.46e	3.05bcd	24.00c	93d	0.57cd
	0	0.71cde	3.54bc	27.36b	98cd	0.74a
	30	0.75cde	4.25ab	28.65b	95d	0.71ab
200	60	0.89c	3.57bc	28.0b	107bc	0.67abc
	90	0.68cde	4.02ab	26.00bc	109b	0.64abcd
	120	1.65a	4.99a	32.00a	133a	0.62bcd

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at the 5% probability level-using Dancan’s Multiple Range Test.

سبب افزایش معنی‌دار آن در مقایسه با شاهد شد. در شوری ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار، کاربرد ملاتونین نسبت به عدم کاربرد آن سبب افزایش کمبود فشار بخار شد. بیشترین کمبود فشار بخاربا ۱۳۳ کیلو پاسکال در تیمار ملاتونین ۲۰۰ میکرومولار و شوری ۱۲۰ میلی مولار مشاهده شد و کمترین مقدار آن ۹۳ کیلو پاسکال در تیمار بدون ملاتونین و شوری ۹۰ میلی‌مولار و ۱۲۰ میلی مولار مشاهده شد (جدول ۴). تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار کارایی کوانتومی فتوسنتز در مقایسه با شاهد شد. ملاتونین تأثیر متفاوتی بر کارایی کوانتومی فتوسنتز در سطوح مختلف شوری داشت. در شوری ۳۰ میلی‌مولار کاربرد ملاتونین نسبت به عدم کاربرد آن کارایی کوانتومی فتوسنتز را افزایش داد و در سطوح دیگر شوری تأثیر معنی‌داری بر آن نداشت (جدول ۴).

نتایج این پژوهش نشان داد که شوری سبب کاهش شاخص‌های رشدی پایه نارنج شد، اما کاربرد ملاتونین به صورت محلول‌پاشی اثر تنش ناشی از شوری را کاهش داد (شکل ۱). کاهش رشد می‌تواند به دلیل اثر تنش شوری بر پتانسیل اسمزی و کاهش سرعت تقسیم سلولی و رشد سلول‌ها باشد. اثر ویژه یون‌های سدیم و کلر و صدمات متابولیکی ناشی از آنها، تداخل در جذب و عملکرد عناصر دیگر و بر هم خوردن تعادل یونی در سلول و گیاه همگی بر رشد گیاه تأثیر دارند. اثر اسمزی شوری که بلافاصله پس از افزایش غلظت نمک در محیط اطراف گیاه ایجاد می‌شود، رشد را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد.



شکل ۱- تصویر اثر شوری بر پایه نارنج . A: شاهد، B: ملاتونین ۲۰۰ میکرومولار و شوری ۹۰ میلی‌مولار، C: شوری ۳۰ میلی‌مولار، D: شوری ۹۰ میلی‌مولار و E: شوری ۱۲۰ میلی‌مولار

Fig. 1. Photo of salt effect on sour orange rootstock. A: control, B: 200 µM melatonin and 90 mM NaCl, C: 30 mM NaCl, D: 90 mM NaCl and E: 120 mM NaCl

زمانی که شوری از آستانه تحمل گیاه بیشتر شود، رشد و توسعه برگ‌ها کاهش یافته، ظهور برگ‌های جدید کند و رشد و توسعه جوانه های انتهایی بسیار آهسته شده و یا این جوانه‌ها به حال رکود در می‌آیند و در نتیجه شاخه های نورسته کمتری تشکیل می‌شود. تجمع یون‌ها با غلظت‌های بالا در برگ‌های قدیمی‌تر منجر به کاهش جریان ترکیبات کربن‌دار به بافت‌های در حال رشد می‌شود (Munns and Tester, 2008). کاهش رشد نشان‌دهنده اثر بازدارندگی کلرید سدیم (NaCl) بر فعالیت‌های متابولیکی گیاه است. کلرید سدیم با اثر بر رشد و تقسیم سلولی، سبب کاهش ایجاد سلول‌های جدید و در نتیجه کاهش رشد و کاهش وزن در شرایط طبیعی می‌شود. همچنین، تنظیم اسمزی و سنتز محلول‌های آلی فرآیندی انرژی‌خواه است، بنابراین می‌تواند در رشد گیاه اختلال ایجاد کرده و رقیبی برای منابع ذخیره‌ای گیاه باشد (Munns and Tester, 2008).

بخش عمده‌ای از منابع ذخیره‌ای و تولیدات فتوسنتزی به جای ادامه رشد و نمو برای بقا و حفظ فشار اسمزی گیاه مصرف می شود. در پژوهشی با بررسی اثر تنش شوری بر یک پایه مرکبات (US-942) گزارش شد که این پایه توانایی تحمل سطوح متوسط تنش شوری (۶۰ تا ۹۰ میلی‌مولار) را دارد، ولی در شوری زیاد آسیب می‌بینند. تنش شوری در این پایه منجر به تغییرات فیزیولوژیکی و آناتومیکی شد و با افزایش سطح شوری میزان کلروفیل گیاه روند کاهشی داشت (Adams *et al*., 2019).

حسین و همکاران (Hussain *et al*., 2012) با بررسی تغییرات فیزیولوژیکی ژنوتیپ‌های مختلف مرکبات در شرایط تنش شوری گزارش کردند که گونه‌های حساس به شوری مرکبات مقادیر بیشتری کلر و سدیم جذب می‌کنند و همچنین میزان فتوسنتز کمتری در شرایط شوری داشتند. همچنین آنها بیان داشتند که میزان کلر در بافت‌های گیاه می‌تواند یک شاخص مناسب برای ارزیابی تحمل به شوری در گونه‌های مرکبات باشد. در پژوهشی دیگر نیز بر روی پایه‌های زیتون نشان داده شد، که ژنوتیپ‌های حساس به شوری بیشترین میزان انتقال سدیم و کلر را از ریشه به برگ و ساقه تحت شرایط تنش شوری داشتند (Zeinanloo *et al*., 2020).

برموس و همکاران (Brumos *et al*., 2010) گزارش کردند که اثر اولیه تنش شوری در مرکبات شامل کاهش هدایت روزنه‌ای، کاهش جذب CO_2 و در نهایت کاهش فتوسنتز خالص و افزایش تجمع یون‌های سمی است. کاربرد ملاتونین، صدمات اکسیداتیو ناشی از تنش شوری را از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاهش داده و همچنین ملاتونین از بیان ژن‌های مربوط به بیوسنتز اسید آبسزیک جلوگیری کرده و موجب کاهش اسید آبسزیک در طول دوره جوانه‌زنی می شود و با القای بیوسنتز جیبرلین سرعت جوانه زنی

در شرایط تنش شوری را افزایش می‌دهد (Ali *et al*., 2020). بدین ترتیب که غلظت‌های پایین ملاتونین سبب تحریک بیوسنتز ایندول استیک اسید (IAA) شده و IAA تولید شده و رشد ریشه را تحریک می‌کند. ملاتونین ریشه‌زایی را از طریق القای اکسین و تولید اندام هوایی را از طریق افزایش سیتوکینین تنظیم می‌کند و همانند یک تنظیم کننده رشد گیاهی باعث رشد ساقه، برگ و ریشه گیاه می شود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد در تنش شوری ملاتونین باعث افزایش درصد رطوبت برگ و افزایش رشد طولی ریشه شد ولی تفاوت معنی‌دار در طول ریشه مشاهده نشد (جدول ۲).

یکی از آثار تنش‌های محیطی نظیر تنش شوری افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و القای تنش اکسیداتیو است (Pessarakli, 2016). گونه‌های فعال اکسیژن منجر به پرکسیداسیون لیپیدهای غشاء و تغییر در نفوذپذیری غشاء (نشت یونی) و خسارت به سلول می‌شوند. بنابراین اندازه‌گیری میزان نشت یونی شاخص خوبی برای اندازه‌گیری میزان تنش اکسیداتیو وارد شده به غشاء می‌باشد (Pandey, 2015). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش شوری نشت یونی افزایش یافت و اما استفاده از ملاتونین باعث کاهش نشت‌یونی در پایه نارنج شد (جدول ۳). ابتدایی و همکاران (Ebtadaei *et al*., 2022) نشان دادند که کاربرد ملاتونین در دو پایه‌ی تجاری گلابی در شرایط تنش خشکی نیز موجب کاهش نشت‌یونی شد.

تنش شوری با تأثیری که بر روی غشاء سیتوپلاسمی می‌گذارد سبب ایجاد آسیب بر روی غشاء سیتوپلاسمی می‌شود که این آسیب سبب نشت محتویات سلولی به فضای بین سلولیو در نهایت سبب مرگ سلول می‌شود (Pandey, 2015). مقدار Fv/Fm نشان دهنده ظرفیت انتقال الکترون سامانه نوری II است، بنابراین کاهش نسبت Fv/Fm نشانه کاهش میزان حفاظت نوری بوده و همچنین دلیلی است بر این که تنش شوری بر کارایی فتوسنتزی اثر معنی‌داری دارد. با توجه به نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر می‌توان چنین استنباط کرد که کاهشFv/Fm عمدتاً به خاطر وقوع آشفتگی در کلروپلاست می‌باشد، زیرا فلورسانس کلروفیل به طور مستقیم به فعالیت کلروفیل در واکنش فتوسیستم‌ها ارتباط دارد و می‌توان از آن به عنوان شاخصی برای اندازه‌گیری کارایی سامانه نوری نام برد. استفاده از فلورسانس کلروفیل می‌تواند به عنوان یک روش کاربردی مؤثر برای ارزیابی سرعت فتوسنتز برگ باشد (Earl *et al*., 2003; Havaux and Niyogi, 1999).

سامانه نوری II بسیار حساس به عوامل بازدارنده محیطی است و تنش شوری باعث خسارت به این سامانه می‌شود (Makhdum *et al*. 2002). میزان فلورسانس کلروفیل در واقع سالم بودن غشاء تیلاکوئید و کارایی نسبی انتقال الکترون از سامانه نوری II به

سامانه نوری I را نشان می‌دهد. هنگامی که مولکول‌های کوئینون (اولین کوئینون گیرنده الکترون سامانه نوری II) در وضعیت کاملاً اکسید شده هستند، سامانه دارای کمترین فلورسانس (Fo) است که به تدریج با افزایش وضعیت احیایی این مولکول‌ها فلورسانس افزایش می‌یابد. این روند تا احیای کامل مولکول‌های آن ادامه پیدا می‌کند. در چنین حالتی مرکز فتوسیستم در حالت احیای کامل بوده و دارای بیشترین فلورسانس (Fm) است.

اصولاً مقدار فلورسانس کلروفیل در زمانی که در حالت احیاء باشد، زیاد است و به این دلیل مقدار فلورسانس متغیر (Fv)، نیز در این حالت زیاد می‌شود، اما هنگامی که Qa در حالت اکسید باشد مقدار فلورسانس کلروفیل کم می شود. در واقع، تنش شوری با اثر منفی که بر تثبیت کربن می‌گذارد، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش داده، در نتیجه سیستم به سرعت به Fm می‌رسد که نتیجه آن کاهش فلورسانس متغیر (Fv) خواهد بود. از طرفی، با افزایش شدت نور، سیستم فتوسنتزی با یک روش تنظیمی، برای کاهش انرژی القاء شده تحریکی، انرژی مازاد را به طریق افزایش خاموشی غیرفتوشیمیایی، به صورت فرآیند غیرتشعشعی از دست می‌دهد. با این سازوکار تنظیمی، ضمن حفاظت از مرکز واکنش، موجب می‌گردد که حداقل صدمه به این مرکز وارد شود (Bhardway and Signal, 1981).

با افزایش سطح شوری میزان فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای در پایه مرکبات کاهش پیدا می‌کند. در پژوهش حاضر کمترین میزان هدایت روزنه‌ای در پایه نارنج در شوری ۳۰ و بدون محلول پاشی میلی مول بر متر مربع در ثانیه۲۴ بود. سایر پژوهشگران گزارش کرده اند که اثر نمک کلرید سدیم بر پایه مرکبات در غلظت‌های ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار باعث افزایش میزان کلر در برگ‌ها و نهایتاً منجر به کاهش فتوسنتز شد (Melgar *et al.*, 2008). به عنوان مثال: تنش شوری کلرید سدیم در سطوح ۶۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار بر دانهال‌های شش ماهه رانگپور لایم (*Citrus limoma* Osbeck) و زیتون رقم أربیکن (*Olea europaea* L. cv. Arbequina) به دلیل تجمع یون‌های سدیم و کلر در ریشه و بافت برگ منجر به کاهش فتوسنتز خالص و کاهش هدایت روزنه‌ای گردید (Melgar *et al.*, 2008).

در پژوهشی دیگر، حسین و همکاران (Hussain *et al.*, 2012) با بررسی تغییرات فیزیولوژیکی ژنوتیپ‌های مختلف مرکبات در شرایط تنش شوری گزارش کردند که گونه‌های مرکبات حساس به شوری مقادیر بیشتری کلر و سدیم جذب می‌کنند و میزان فتوسنتز کمتری در شرایط تنش شوری دارند. همچنین آن‌ها گزارش دادند که میزان کلر در بافت‌های گیاه می‌تواند یک شاخص مناسب برای ارزیابی تحمل به تنش شوری در گونه‌های مرکبات باشد. همچنین گزارش شده است که آثار اولیه تنش شوری در مرکبات شامل کاهش

هـدایت روزنـه‌ای، کـاهش جـذب CO_2 و در نهایت کاهش فتوسنتز خـالص و افـزایش تجمـع یون‌های سـمی اسـت (Brumos *et al*., 2010). علـم و همکـاران (Alam *et al*., 2020) نیـز گزارش کردند ، نهـال کالامانسـی از نظـر رشـد فیزیکـی، تجمـع مـواد معـدنی و ویژگـی هـای بیوشیمیایی حساس‌تـرین پایـه مـورد بررسـی بـه تنش شـوری بـود، در حـالی کـه عملکـرد نهـال نارنگی کلئوپاترا پـس از نهـال پوملـو نسـبت بـه تنش شوری بهتر بود.

اسـتفاده از ملاتـونین در گیاهـان مختلـف در شرایط تنش اثر مثبتـی بـر تحمـل تـنش در گیـاه دارد (Moustafa-Farag *et al*., 2020). کاربرد ملاتـونین و اسـید آسـکوربیک در نهـال نــارنگی در شــرایط تــنش شــوری بــا بهبــود هموســتازی یــون‌هــا، افــزایش پــرولین و کربوهیدرات‌ها، بهبود فعالیت آنـزیم‌هـای آنتـی اکسیدان و همچنین بیوسنتز میواینوزیتول موجب افزایش تحمـل تـنش شـوری در ایـن گیـاه شـد (Kostopoulou *et al*., 2015). ابتــدایی و همکـاران (Ebtadaei *et al*., 2022) گـزارش کردند که کاربرد ملاتونین در دو پایه‌ی تجاری گلابی در شرایط تنش خشکی آثار منفـی تـنش خشکی را کاهش داد و موجب افزایش پایداری غشاء و کاهش تخریب کلروفیل شد.

کـاربرد خـارجی ملاتـونین بـا بهبـود سـامانه آنتـی‌اکسـیدانی، محافظـت از غشـاء سـلول و افزایش محافظت‌کننده‌های اسمزی سـبب بهبـود تحمل به تنش شوری در گوجه‌فرنگی و هندوانه شـد (Li *et al*., 2017; Ali *et al*., 2020). علاوه بر این، ملاتونین انسداد روزنـه‌ای را مهـار می‌کند، از کلروفیـل محافظـت کـرده و جـذب نــور، تثبیــت CO_2 و فعالیــت فتوســنتز را بهبـود می‌بخشـد. اسـتفاده از ملاتـونین باعـث افـزایش تجمـع اسـمولیت‌هـای آلـی، از جملـه قنــدهای محلــول، پــروتئین محلــول در آب و پرولین می‌شـود، بنـابراین سـلول‌ها را از کمبـود آب در شرایط تنش شـوری محافظـت مـی‌کنـد (Liu *et al*., 2018). در پـژوهش حاضـر نیـز کاربرد ملاتـونین بـه‌خصـوص در غلظـت بـالای نمــک کلریــد ســدیم ســبب بهبــود میــزان آسیمیلاسیون شـد و هـدایت روزنـه‌ای را بهبـود بخشید و در نتیجه باعث بهبود رشـد پایـه نـارنج در شرایط تنش شوری شد.

به طور کلی نتایج پـژوهش حاضـر نشـان داد که تنش شوری دارای آثار منفی بر رشـد و نمـو پایه نارنج بود. با افزایش سطح شوری آثار منفی آن بیشـتر مشـاهده شـد. بـه‌طـوری کـه کمتـرین خصوصیات رشدی در شـوری ۱۲۰ میلـی‌مـولار مشاهده شد. کاربرد ملاتونین در مقایسه بـا عـدم کاربرد آن سبب کـاهش آثـار تـنش شـوری بـر گیاه شد ولی تأثیر آن یکسان نبود و تحت تـأثیر سطوح شوری قرار گرفت.

در ایــن پــژوهش تعــداد شــاخه نورســته در مقادیر بالای شوری بـه شـدت کـاهش یافـت و محلـول‌پاشــی بــا ملاتــونین می‌توانــد یکــی از راه‌حل‌هـای مـؤثر بـرای افـزایش تعـداد شـاخه نورسته باشد. بـا افـزایش سـطح شـوری طـول و

عرض برگ در شاخه نورسته روند کاهشی داشت به طوری که کمترین طول و عرض برگ در تیمار بدون ملاتونین و شوری ۱۲۰ میلی‌مولار مشاهده شد ولی در سطوح مختلف شوری، ملاتونین سبب افزایش معنی‌دار طول و عرض برگ نسبت به شاهد شد. همچنین نتایج نشان داد که کاربرد ملاتونین سبب کاهش نشت یونی شد ولی درصد رطوبت برگ، میزان آسیمیلاسیون، هدایت روزنه‌ای و عملکرد کوانتومی سامانه نوری را در سطوح بالای شوری بهبود بخشید.

سپاسگزاری

هزینه‌های این پژوهش از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه ایلام تامین و مراحل اجرای آن در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد که نگارندگان بدین‌وسیله سپاسگزاری خود را اعلام می‌دارند.

References

Adams, S. N., Ac-Pangan, W. O., and Rossi, L. 2019. Effects of soil salinity on citrus rootstock ‘US-942’physiology and anatomy. HortScience 54 (5): 787-792.

Alam, A., Ullah, H., Attia, A., and Datta, A. 2020. Effects of salinity stress on growth, mineral nutrient accumulation and biochemical parameters of seedlings of three citrus rootstocks. International Journal of Fruit Science 20 (4): 786-804.

Ali, M., Kamran, M., Abbasi, G. H., Saleem, M. H., Ahmad, S., Parveen, A., and Fahad, S. 2020. Melatonin-induced salinity tolerance by ameliorating osmotic and oxidative stress in the seedlings of two tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivars. Journal of Plant Growth Regulation 40 (5): 1-15.

Arnao M. B., and Hernández-Ruiz, J. 2013. Growth conditions influence the melatonin content of tomato plants. Food Chemistry 138 (2-3): 1212-1214.

Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenol oxidase in Beta Vulgaris. Plant Physiology 24 (1): 1-15.

Bajwa, V. B., Shukla, M. R., Sherif, S. M., Murch, S. J., and Saxena, P. K. 2014. Role of melatonin in alleviating cold stress in *Arabidopsis thaliana*. Journal of Pineal Research 56 (3): 238-245.

Bhardway, R., and Signal, G. 1981. Effect of water stress on photochemical activity of chloroplasts during greening etiolated barley seedlings. Plant Cell Physiology 22 (2): 155-162.

Boyer, J. S. 1982. Plant productivity and environment. Science 218: 443-448.

Brumos, J., Talon, M., Bouhlal, R. Y. M., and Colmenero-Flores, J. M. 2010.

Cl-homeostasis in includer and excluder citrus rootstocks: transport mechanisms and identification of candidate genes. Plant, Cell & environment 33 (12): 2012-2027.

Dubbels, R., Reiter, R. J., Klenke, E., Goebel, A., Schnakenberg, E., Ehlers, C., and Schloot, W. 1995. Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. Journal of Pineal Research 18 (1): 28-31.

Earl, H. J., and Davis, R. F. 2003. Effect of drought stress on leaf canopy radiation use efficiency and yield of maize. Agronomy Journal 95 (3): 688- 696.

Ebtadaei, M., Arzani, K., and Abdollahi, H. 2022. Physiological and biochemical responses of Dargazi seedling and Pyrodwarf clonal pear rootstocks to Melatonin application under drought stress conditions. Seed and Plant Journal 37 (4): 453- 470. (in Persian)

Havaux, M., and Niyogi, K. K. 1999. The violoxanthin cycle protects plants from photo oxidative damage by more than one mechanism. Proceedings of the National Academy of Sciences 96 (15): 8762-8767.

Hussain, S., Luro, F., Costantino, G., Ollitrault, P., and Morillon, R. 2012. Physiological analysis of salt stress behaviour of citrus species and genera: low chloride accumulation as an indicator of salt tolerance. South African Journal of Botany 81: 103-112.

Kostopoulou, Z., Therios, I., Roumeliotis, E., Kanellis, A. K., and Molassiotis, A. 2015. Melatonin combined with ascorbic acid provides salt adaptation in *Citrus aurantium* L. seedlings. Plant Physiology and Biochemistry 86: 155-165.

Li, C. K., Wang, P., Wei, Z., Liang, D., Liu, C., Yin, L., Jia, D., Fu, M., and Ma, F. 2012. The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in *Malus hupehensis*. Journal of Pineal Research 53(3): 298-306.

Li, H., Chang, J., Chen, H., Wang, Z., Gu, X., Wei, C., and Zhang, X. 2017. Exogenous melatonin confers salt stress tolerance to watermelon by improving photosynthesis and redox homeostasis. Frontiers in Plant Science 8: 295. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00295

Li, Y., Zhang, Y., Feng, F., Liang, D., Cheng, L., Ma, F., and Shi, S. 2010. Overexpression of a *Malus* vacuolar Na+/H+ antiporter gene (MdNHX1) in apple rootstock M.26 and its influence on salt tolerance. Plant Cell Tissue and Organ Culture 102 (2): 337-345.

Liu, Z., Cai, J. S., Li, J. J., Lu, G. Y., Li, C. S., Fu, G. P., and Cheng, Y. 2018. Exogenous application of a low concentration of melatonin enhances salt tolerance in rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings. Journal of Integrative Agriculture 17 (2): 328-335.

Lutts, S., Kinet, J. M., and Bouharmont, J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.). Annals of Botany 78 (3): 389-398.

Makhdum, M. I., Malik, M. N. A., Din, S. U., Ahmad, F., and Chaudhry, F. I. 2002. Physiological response of cotton to methanol foliar application. Journal Research Science 13 (1): 37-43.

Melgar, J. C., Syvertsen, J. P., Martínez, V., and García-Sánchez, F. 2008. Leaf gas exchange, water relations, nutrient content and growth in *citrus* and *olive* seedlings under salinity. Biologia Plantarum 52: 385-390.

Moustafa-Farag, M., Elkelish, A., Dafea, M., Khan, M., Arnao, M. B., Abdelhamid, M. T., and Ai, S. 2020. Role of melatonin in plant tolerance to soil stressors: salinity, pH and heavy metals. Molecules 25 (22): 5359. DOI: 10.3390/molecules25225359.

Munns, R., and Tester, M. 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. Annual Review of Plant Biology 59: 651-681.

Navarro, J. M., Pérez-Tornero, O., and Morte, A. 2014. Alleviation of salt stress in citrus seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi depends on the rootstock salt tolerance. Journal of Plant Physiology 171 (1): 76-85.

Pandey, H. C., Baig, M. J., Chandra, A., and Bhatt, R. K. 2015. Drought stress induced changes in lipid peroxidation and antioxidant system in genus Avena. Journal of Environment Biology 31 (4): 435-440.

Parida, A. K., and Das, A. B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60 (3): 324-349. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2004.06.010.

Pessarakli, M. 2016. Handbook of plant and crop stress. CRC press. 1254 pp.

Raveh, E., and Levy, Y. 2005. Analysis of xylem water as an indicator of current chloride uptake status in citrus trees. Scientia Horticulturae 103 (3): 317-327.

Shi, H., Quintero, F. J., Pardo, J. M., and Zhu, J. K. 2002. The putative plasma membrane Na(+)/H(+) antiporter SOS1 controls long-distance Na(+) transport in plants. Plant Cell 14 (2): 465-477.

Shi, H., Jiang, C., Ye, T., Tan, D. X., Reiter, R. J., Zhang, H., Liu, R., and Chan, Z. 2015. Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyse sreveal mechanisms of improved abiotic stress resistance in bermudagrass (*Cynodon dactylon* L. Pers.) by exogenous melatonin. Journal of Experimental Botany 66 (3): 681-694.

Syvertsen, J. P., and Garcia-Sanchez, F. 2014. Multiple abiotic stresses occurring with salinity stress in citrus. Environmental and Experimental Botany 103: 128-137.

Takahashi, S., and Murata, N. 2008. How do environmental stresses accelerate photoinhibition? Trends in Plant Science 13 (4): 178-182.

Tal, O., Haim, A., Harel, O., and Gerchman, Y. 2011. Melatonin as an antioxidant and its semi-lunar rhythm in green macroalga *Ulva* sp. Journal Experimental Botany 62 (6):1903-1910.

Wang, P., Yin, L., Liang, D., Li, C., Ma, F., and Yue, Z. 2012. Delayed senescence of apple leaves by exogenous melatonin treatment: Toward regulating the ascorbate-glutathione cycle. Journal of Pineal Research 53 (1): 11-20.

Zahedi, S. M., Hosseini, M. S., Abadía, J., and Marjani, M. 2020. Melatonin foliar sprays elicit salinity stress tolerance and enhance fruit yield and quality in strawberry (*Fragaria× ananassa* Duch.). Plant Physiology and Biochemistry 149: 313-323.

Zeinanloo, A. A., Dodangeh, M., and Tavusi, S. M. 2020. Evaluation of Salinity tolerance in six olive (*Olea europaea* L.) genotypes in controlled environment. Seed and Plant Journal 36 (3): 317-333 (in Persian)

Zhang, N., Zhang, H. J., Zhao, B., Sun, Q. Q., Cao, Y. Y., Li, R., Wu, X. X., Weeda, S., Li, L., Ren, S., Reiter, R., and Guo, Y. D. 2014. The RNA-seq approach to discriminate gene expression profiles in response to melatonin on cucumber lateral root formation. Journal of Pineal Research 56 (1): 39-50.

Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S., and Guo, Y. D. 2015. Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. Journal of Experimental Botany 66 (3): 647-656.

Effect of Foliar Application of Melatonin on Some Morphological and Physiological Traits of Sour Orange Rootstock in Salinity Stress Conditions

A. Ali Khudady[1], J. Erfani-Moghadam[2*], F. Ghanbari[3], and M. Hadadinejad[4]

1. **Former M. Sc. Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.**
2. **Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.**
3. **Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.**
4. **Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.**

ABSTRACT

Ali Khudady, A., Erfani-Moghadam, J., Ghanbari, F., and Hadadinejad, M. 2022. Effect of foliar application of melatonin on some morphological and physiological traits of sour orange rootstock in salinity stress conditions. **Seed and Plant 38:**433-452 (in Persian).

Soil salinity is one of the major environmental stresses which reduces the growth and yield of crops by affecting wide spectra of physiological and biochemical processes in plants. In this study, effect of foliar application of melatonin levels (0 and 200 μM) under salt levls (0, 30, 60, 90 and 120 mM NaCl) on sour orange rootstock was investigated. The experiment was carried-out as factorial arrangements in completely randomized design with four replications in 2020-21 at the research farm of Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. The results showed that most of morphological and physiological characteristics were affected by salinity and foliar application of melatonin. Salinity × foliar application of melatonin interaction effect was significant on most of studied traits including leaf length, leaf width, flush number, flush length, root length, leaf moisture and dry matter contents of leaf, ion leakage, stomatal conductance, transpiration rate, of assimilation rate, vapor pressure deficit and photosynthetic quantum yield. Foliar application of melatonin increased leaf moisture content, flush number, assimilation rate, stomatal conductance and photosynthesis quantum yield, while leaf ion leakage decreased. The highest photosynthetic quantum yield was recorded in 200 µM melatonin and salinity free treatment. Foliar application of melatonin under salinity stress conditions improved most of the physiological parameters. Foliar application of melatonin at different salinity levels caused significant increases in length and width of flush leaves compared to the control. Overall, the results of this study showed that foliar application of melatonin reduced negative effects of salinity stress on growth and physiology of sour orange rootstock, therefore, it can be considered as an effective approach to mitigate the adverse effect of soil and water salinity on sour orange rootstock.

Keywords: Sour orange, ion leakage, stomatal conductance, transpiration rate, photosynthesis.

***Corresponding author:** J.erfani@ilam.ac.ir **Tel.:** +988432227015

Received: 01 November 2022
Accepted: 30 December 2022